

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
23. Juni 2005 (23.06.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/057179 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **G01N 1/28**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/014311

(22) Internationales Anmeldedatum:  
15. Dezember 2004 (15.12.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 58 565.6 15. Dezember 2003 (15.12.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): **P.A.L.M. MICROLASER TECHNOLOGIES AG**  
[DE/DE]; Am Neuland 12, 82347 Bernried (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **NIYAZ, Yilmaz**  
[TR/DE]; Bismarckstrasse 13, 86159 Augsburg (DE).  
**SCHÜTZE, Karin** [DE/DE]; Lange Strasse 8a, 82327  
Tutzing (DE).

(74) Anwalt: **BANZER, Hans-Jörg**; Kraus & Weisert,  
Thomas-Wimmer-Ring 15, 80539 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,  
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,  
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL,  
PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

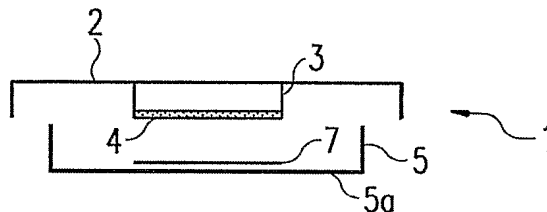
**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden  
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen  
eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: RECEIVING ELEMENT FOR RECEIVING AN OBJECT WHICH IS DISSOLVED FROM A BIOLOGICAL MATE-  
RIAL BY MEANS OF LASER RADIATION

(54) Bezeichnung: AUFNAHMEELEMENT ZUM AUFNEHMEN EINES AUS EINER BIOLOGISCHEN MASSE MITTELS  
LASERSTRAHLUNG HERAUSGELÖSTEN OBJEKTS



element (1) is particularly suitable for capturing objects which are catapulted from the biological material (7).

(57) Abstract: Disclosed is a receiving element (1) for receiv-  
ing a biological object dissolved from a biological material by  
means of laser radiation. The receiving element has a receiving  
surface which is used to receive the object. The receiving sur-  
face comprises an adhesion agent (4) for improving the adhesion  
of the respective object on the receiving surface. The adhesion  
agent (4) prevents electrostatic forces acting upon the object to  
occur in the receiving element (1), can be detached without dam-  
aging the object and/or can receive means for further processing  
the object. A hydrogel, such as agarose for example, is par-  
ticularly suitable for use as an adhesive agent. Said receiving

(57) Zusammenfassung: Es wird ein Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse mittels Laser-  
strahlung herausgelösten biologischen Objekts bereitgestellt, wobei das Aufnahmeelement eine Aufnahmefläche zum Aufnehmen  
des Objekts aufweist, wobei die Aufnahmefläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an der  
Aufnahmefläche aufweist. Das Haftmittel (4) unterdrückt das Auftreten von auf das Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften  
in dem Aufnahmeelement (1), ist ohne Beschädigung des Objekts auflösbar und/oder kann Mittel zur weiteren Verarbeitung des  
Objekts aufnehmen. Als Haftmittel (4) eignet sich dabei insbesondere ein Hydrogel wie beispielsweise Agarose. Ein derartiges  
Aufnahmeelement (1) eignet sich insbesondere zum Auffangen von aus der biologischen Masse (7) herauskatapultierten Objekten.

WO 2005/057179 A1

**Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse mittels  
Laserstrahlung herausgelösten Objekts**

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse mittels Laserstrahlung herausgelösten und insbesondere  
10 herauskatapultierten, das heißt unter Übertragung eines Impulses herausgelösten, biologischen Objekts.

In der WO 97/29355 A der Anmelderin wird ein neuartiges Verfahren zur Sortierung und zur Gewinnung von einzelnen biologischen Objekten, welche auf einem Träger angeordnet sind,  
15 vorgeschlagen. Insbesondere wird in dieser Druckschrift vorgeschlagen, ein zuvor selektiertes biologisches Objekt von der umgebenden weiteren biologischen Masse durch einen Laserstrahl abzutrennen, so dass das selektierte biologische Objekt von der weiteren biologischen Masse frei präpariert ist. Das somit frei präparierte biologische Objekt wird anschließend mit Hilfe eines Laserpulses von dem Träger zu einer Auffangvorrichtung  
20 katapultiert, wo es von einem Auffang- oder Aufnahmeelement, insbesondere in Form eines topfförmigen Behälters, aufgefangen und gehalten wird. Ebenso ist bei entsprechender Einstellung der Laserenergie und/oder des Laserfokus ein direktes Herauskatapultieren des selektierten biologischen Objekts aus der umgebenden biologischen Masse mit Hilfe lediglich eines einzigen Laserpulses möglich, so dass eine separate Laserbestrahlung zum  
25 Herausschneiden des gewünschten biologischen Objekts nicht erforderlich ist.

Unter "biologischen Objekten" werden allgemein im Rahmen der vorliegenden Patentanmeldung vor allem lebende oder fixierte biologische Zellen oder Zellbestandteile verstanden, die Bestandteil eines flüssigen oder festen biologischen Materials, wie  
30 beispielsweise eines Zellgewebes, dessen mikrotomischer Präparate, eines Abstriches oder einer Zellkultur etc. sind.

Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend anhand des Anwendungsbereichs der Bearbeitung biologischer Objekte beschrieben.

35

In Figur 3 ist der Aufbau eines Laser-Mikroskop-Systems dargestellt, wie es zur Verwendung mit einer zuvor beschriebenen Auffangvorrichtung bzw. einem zuvor beschriebenen

Aufnahme- bzw. Auffangelement eingesetzt werden kann. Das System ist modular aufgebaut und kann somit an unterschiedliche experimentelle Anforderungen individuell angepasst werden.

- 5 Das in Figur 3 gezeigte System umfasst eine Laservorrichtung 17, in welcher eine Laserlichtquelle zur Erzeugung eines Laserlichtstrahls untergebracht ist. Des weiteren ist in der Laservorrichtung 17 eine Optik 15, 16 untergebracht, welche erforderlich ist, um den Laserstrahl in ein Mikroskop 13 einzukoppeln und den Laserfokus in der Objektebene auf den optischen Fokus des Mikroskops 13 abzustimmen. Im vorliegenden Fall kann es sich um  
10 einen gepulsten UV-Stickstofflaser handeln. Zur Steuerung der Laservorrichtung 17 kann ein Steuerpaneel vorgesehen sein, mit dessen Hilfe die Laserenergie und/oder der Laserfokus auf gewünschte Werte eingestellt werden kann. Zur präzisen Verstellung der Laserenergie ist ein Quarzfilter 15 senkrecht zum Laserstrahlpfad angeordnet, dessen Lage in Abhängigkeit von der am Steuerpaneel vorgenommenen Einstellung gesteuert werden kann,  
15 um somit die Laserenergie entsprechend einzustellen. Die Verstellung des Quarzfilters 5 kann dabei sowohl automatisch als auch manuell erfolgen. Neben der Einstellung der Laserenergie kann auch der Laserfokus unabhängig von dem Mikroskopfokus eingestellt werden, d.h. der Brennpunkt des Lasers kann in Z-Richtung relativ zur Objektebene des Mikroskops 13 verschoben werden. Auch der Laserfokus kann in Abhängigkeit von der am  
20 Steuerpaneel vorgenommenen Einstellung sowohl automatisch als auch manuell durch eine entsprechende Bewegung der Linsen 16 verstellt werden. Vorzugsweise kann über das erwähnte Steuerpaneel auch die Impulsrate des Lasers eingestellt werden, wobei zudem eine Anzeige über die am Steuerpaneel vorgenommenen Einstellung informiert.
- 25 Der Laserstrahl wird über mehrere beschichtete Strahlteiler in das Mikroskop 13 eingekoppelt und zu einem Objektiv 12 hin abgelenkt. Der über das Objektiv 12 emittierte Laserstrahl trifft schließlich auf einen motorisierten und computergesteuerten Mikroskop- oder Trägertisch 14, auf dem ein Objektträger mit einer zu bearbeitenden biologischen Masse angeordnet ist. Oberhalb des Trägertisches 14 befindet sich eine ebenfalls  
30 motorisierte und vorzugsweise computergesteuerte Auffangvorrichtung 19, welche ein oder mehrere Aufnahme- bzw. Auffangelemente oder Auffanggefäße 1 aufweist. Die Komponenten 14 und 19 ermöglichen eine exakte Objektpositionierung sowie ein präzises Auffangen von biologischen oder nichtbiologischen Objekten, welche mittels Laserbestrahlung von der auf dem Trägertisch 14 befindlichen Masse nach oben  
35 herauskatapultiert werden.

Bei dem Mikroskop 13 kann es sich um ein beliebig ausgestaltetes Mikroskop handeln. Insbesondere ist grundsätzlich die Verwendung sowohl eines (in Figur 3 gezeigten) inversen Mikroskops als auch eines aufrechten Mikroskops oder eines Lasermikroskops denkbar. Das Mikroskop 13 ist mit einer Videokamera ausgestattet, welche den Bereich des Objektträgers bzw. Trägertisches 14 oberhalb des Objektivs 12 aufnimmt. Das Videosignal dieser Videokamera wird einem handelsüblichen Computer 18 zugeführt und dort einer derartigen Bildverarbeitung unterzogen, dass das entsprechende Videobild in Echtzeit auf dem Bildschirm oder Monitor 8 des Computers 18 dargestellt werden kann.

In dem Computer 18 bzw. der darauf ablaufenden Software sind verschiedene Funktionen implementiert, welche sowohl eine rechnergestützte, d.h. automatische, Ansteuerung der Laservorrichtung 17 als auch des Mikroskops 13 bzw. des Trägertisches 14 und der Auffangvorrichtung 19 ermöglichen, so dass beispielsweise der Laser automatisch aktiviert wird und die Auffangvorrichtung 19 sowie der Trägertisch 14 automatisch verfahren und verstellt werden können. Zur Einstellung bzw. Auswahl dieser Funktionen sind herkömmliche Eingabemittel, wie beispielsweise eine Tastatur 9, eine Computermouse 10 oder ein (nicht gezeigter) Trackball, Joystick o. dgl. vorgesehen. Des weiteren ist der Laservorrichtung 17 ein Fußschalter 11 zugeordnet, durch dessen Betätigung der Laser manuell aktiviert werden kann.

Zum Schneiden der auf dem Objektträger bzw. dem Trägertisch 14 befindlichen biologischen Masse kann der Benutzer rechnergestützt eine geeignete Schnittlinie vorgeben, die durch entsprechende Ansteuerung der Laservorrichtung 17 und des Trägertisches 14 in eine entsprechende Relativbewegung zwischen dem Laserstrahl und dem Trägertisch 14 umgesetzt wird, so dass bei gleichzeitiger Aktivierung der Laservorrichtung 17 die biologische Masse entsprechend der vorgegebenen Schnittlinie mittels des Laserstrahls geschnitten wird.

Ein auf diese Weise aus der biologischen Masse ausgeschnittenes Objekt kann mit Hilfe einer weiteren Laserbestrahlung aus der biologischen Masse zu der darüber befindlichen Auffangvorrichtung 19 katapultiert werden. Zu diesem Zweck können die zu katapultierenden Objekte rechnergestützt definiert bzw. markiert und anschließend der Trägertisch 14 automatisch derart verstellt werden, dass die zu katapultierenden Objekte nacheinander über den Laserstrahl bewegt und durch Setzen eines kurzen Laserpulses, auch als Laserschuss bezeichnet, jeweils aus der Objektebene zu der Auffangvorrichtung 19 katapultiert werden. Neben dem zuvor beschriebenen automatischen Erzeugen eines Laserpulses kann ein

einzelner Laserimpuls oder Laserpuls auch durch einen kurzen Druck auf den in Figur 3 gezeigten Fußschalter 11 ausgelöst werden.

Wie bereits zuvor erwähnt worden ist, ist es grundsätzlich auch möglich, durch eine entsprechende Laserbestrahlung einzelne Objekte direkt aus der umgebenden biologischen Masse herauszukatapultieren, wenn die Laserenergie und/oder der Laserfokus entsprechend eingestellt werden, so dass ein vorhergehendes Herausschneiden dann nicht mehr nötig ist.

Die Auffangvorrichtung 19, welche sich bei dem in Figur 3 gezeigten inversen System oberhalb des Trägartisches 14 bzw. der Objektebene befindet, weist ein oder mehrere Aufnahme- bzw. Auffangelemente auf, welche ein von der Objektebene herauskatapultiertes Objekt auffangen und anschließend festhalten. Durch Fokussierung des Mikroskops 13 auf die Auffangvorrichtung 19 bzw. das jeweils im Lichtpfad des Mikroskops 13 befindliche Aufnahme- bzw. Auffangelement 1 kann anschließend über das Mikroskop 13 bzw. den Bildschirm 8 des Computers 18 das herauskatapultierte und von dem entsprechende Aufnahme- bzw. Auffangelement gehaltene biologische oder nichtbiologische Objekt betrachtet und untersucht werden, wobei zu diesem Zweck vorzugsweise eine Verstellmöglichkeit zur Verstellung der Auffangvorrichtung 19 parallel zur Objektebene vorgesehen ist, um das herauskatapultierte und in dem entsprechenden Aufnahme- bzw. Auffangelement 1 gehaltene Objekt mit dem Mikroskop 13 abfahren zu können.

Zu bemerken ist, dass der Abstand zwischen der Auffangvorrichtung 19 und dem Träger 14 in der Zeichnung nicht maßstabsgerecht ist. Es ist wünschenswert, hier einen möglichst kleinen Abstand vorzusehen, um ein präzises Auffangen der herauskatapultierten Objekte zu ermöglichen.

Um ein sicheres Haften des herauskatapultierten Objekts an einer Aufnahmefläche des Aufnahmeelements 1 sicherzustellen, ist es bekannt, eine derartige Aufnahmefläche mit einer Haftschrift zu versehen. Häufig stellt sich dann jedoch das Problem, die Objekte beschädigungsfrei zur Weiterverarbeitung von dieser Haftschrift zu lösen. Zudem können – beispielsweise bei Berührung des Aufnahmeelements durch einen Menschen – elektrostatische Kräfte auftreten, welche das Objekt anziehen, wodurch das Objekt nicht korrekt auf die Aufnahmefläche gelangt. Derartige elektrostatische Aufladungen können auch durch die Einwirkung des Laserstrahls erzeugt werden. Um dies zu vermeiden, wird herkömmlicherweise eine Flüssigkeit in die Aufnahmeeinheit gegeben, welche das Auftreten von elektrostatischen Kräften verhindern soll. Dies hat den Nachteil, dass diese Flüssigkeit vorher eingefüllt werden muss, was Zeit kostet und eine Gefahr der Kontamination mit sich

bringt. Zudem kann eine derartige Flüssigkeit verdunsten, sie muss somit relativ kurz vor dem Katapultieren in die Aufnahmeeinheit gefüllt werden, was bei Vielfach-Aufnahmeeinheiten wie beispielsweise Mikrotiterplatten Schwierigkeiten bereiten kann.

- 5 Weiterhin besteht bei herkömmlichen Haftmitteln die Gefahr, dass es Schwierigkeiten geben kann, das Objekt zerstörungsfrei von dem Haftmittel zu lösen.

Zudem sind zur Weiterverarbeitung der Objekte, beispielsweise zur Gewinnung einer Zellkultur bzw. einer biologischen Masse, eine Hinzugabe von beispielsweise Nährlösungen  
10 oder anderen Mitteln zur Weiterverarbeitung nötig. Hierbei besteht wiederum eine erhöhte Kontaminationsgefahr.

Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Aufnahmeeinheit bereitzustellen, welche zumindest einen Teil der dargestellten Probleme vermeidet. Insbesondere ist es  
15 wünschenswert, eine derartige Aufnahmeeinheit beispielsweise zur Serienverarbeitung von biologischem Material im Voraus herstellen zu können und die herauskatapultierten bzw. herausgelösten Objekte möglichst steril weiterverarbeiten zu können.

Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Aufnahmeelement gemäß Anspruch 1, 6, 7 oder 8. Die  
20 abhängigen Ansprüche definieren bevorzugte Ausführungsbeispiele des Aufnahmeelements, eine bevorzugte Verwendung des Aufnahmeelements sowie ein Verfahren zur Gewinnung eines biologischen Objekts unter Benutzung des Aufnahmeelements.

Erfindungsgemäß wird ein Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer biologischen  
25 Masse mittels Laserstrahlung herausgelösten Objekts bereitgestellt, wobei das Aufnahmeelement eine Aufnahmefläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist und wobei die Aufnahmefläche ein Haftmittel zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an der Aufnahmefläche aufweist. Dieses Haftmittel ist erfindungsgemäß derart ausgestaltet, dass es das Auftreten von auf das Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften in dem  
30 Aufnahmeelement unterdrückt. Gemäß einem weiteren Aspekt der Erfindung ist das Haftmittel ohne Beschädigung des Objekts auflösbar, beispielsweise durch Zufuhr von Wärme verflüssigbar. Dabei bedeutet „ohne Beschädigung“ in diesem Zusammenhang, dass eine vorgegebene Verarbeitung und/oder Analyse des Objekts nicht beeinträchtigt wird. Zudem oder alternativ kann das Haftmittel derart ausgestaltet sein, dass es Mittel zur  
35 weiteren Verarbeitung und/oder Analyse des Objekts wie beispielsweise eine Pufferlösung, eine Nährlösung und/oder Enzyme bzw. Enzym-Voransätze beispielsweise für eine

Polymerase-Kettenreaktion (PCR) aufnehmen kann. Es ist selbstverständlich besonders bevorzugt, ein Haftmittel vorzusehen, welches zwei oder alle drei dieser Merkmale aufweist.

Des Weiteren stellt die Erfindung ein gattungsgemäßes Aufnahmeelement bereit, bei dem das Haftmittel ein Hydrogel ist. Dieses Hydrogel kann insbesondere die oben genannten Eigenschaften aufweisen. Allgemein versteht man unter einem Hydrogel ein Gel auf Basis hydrophiler, aber wasserunlöslicher Polymere, welche insbesondere als dreidimensionales Netzwerk vorliegen. Die Polymere können dabei sowohl natürliche Polymere als auch synthetische Polymere sein. Ein mögliches derartiges Hydrogel ist Agarose.

Bei einem bevorzugten Ausführungsbeispiel umfasst das Aufnahmeelement einen Deckelabschnitt zum Abdecken eines Behälters und einen in dem Deckelabschnitt angebrachten Sockelabschnitt mit der Aufnahme­fläche auf einer dem Deckelabschnitt abgewandten Seite. Der Sockelabschnitt weist dabei bevorzugt eine Höhe auf, welche so gewählt ist, dass der Abstand der Aufnahme­fläche zu einem Boden des Behälters in einem Zustand, in dem der Deckelabschnitt den Behälter abdeckt, kleiner als 10 mm und bevorzugt zwischen 1 und 3 mm ist. Wird als Behälter ein für Laserstrahlung durchlässiger Behälter verwendet, insbesondere eine Petrischale mit Doppelmembranboden, kann dieser Behälter dann direkt als Träger für die biologische Masse verwendet werden und das Objekt einfach auf die Aufnahme­fläche katapultiert werden, wenn der Deckelabschnitt den Behälter abdeckt.

Das Aufnahmeelement kann auch in Form einer Mehrfachkulturschale, Petrischale oder einer Mikrotiterplatte mit jeweils einer Vielzahl von Aufnahmevertiefungen ausgebildet sein, wobei die Aufnahmevertiefungen bis zu einer bestimmten Höhe mit dem Hydrogel gefüllt sind.

Die Erfindung wird im Folgenden unter Bezugnahme auf die beigefügte Zeichnung anhand bevorzugter Ausführungsbeispiele näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 ein erstes Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung,

Fig. 2 ein zweites Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung, und

Fig. 3 ein Lasersystem, bei dem die vorliegende Erfindung Verwendung finden kann.

Fig. 1 zeigt ein erstes Ausführungsbeispiel der Erfindung. Ein erfindungsgemäßes Aufnahmeelement 1 umfasst dabei eine Abdeckung oder einen Deckel 2 einer Zellkulturschale 5, beispielsweise einer Petrischale. Auf einer Innenseite des Deckels 1 ist ein Sockel oder Stützelement 3 angebracht. Das Stützelement 3 kann dabei beispielsweise kreisrund sein und aus Silikon oder Acrylglas gefertigt sein wobei auch andere Materialien denkbar sind. Für viele Anwendungen ist es wünschenswert, dass dieses Stützelement 3 autoklavierbar ist, um das Aufnahmeelement sterilisieren zu können. Dafür wird das Stützelement 3 sterilisiert und die Agaroseschicht 4 durch Gießen von hochprozentiger, sterilisierter, gefilterter Agarose in eine entsprechende Schablone aufgebracht. Das Stützelement 3 ist mit einem nichttoxischen Material an der Innenfläche des Deckels 2 angebracht, wobei diese Verbindung reversibel ist, um das Stützelement 3 auch bei Bedarf wieder entfernen zu können.

Auf einer unteren Seite des Stützelements 3 befindet sich eine Aufnahme­fläche für insbesondere biologische Objekte, welcher mit einer Agaroseschicht 4 bevorzugt aus hochwertiger, d.h. hochreiner LE-Agarose bedeckt ist. Die Agaroseschicht dient dabei als Haftmittel, um die Objekte an der Aufnahme­fläche festzuhalten. Prinzipiell kann anstelle der Agaroseschicht 4 auch ein anderes geeignetes Hydrogel oder ein anderes Haftmittel mit den gewünschten Eigenschaften verwendet werden.

Für den in der Beschreibungseinleitung ausführlich unter Bezugnahme auf Fig. 3 beschriebenen Katapultvorgang wird der Deckel 2 auf eine passende Petrischale 5 gesetzt. Die Petrischale 5 weist bevorzugt statt eines herkömmlichen Glasbodens eine Doppelmembran 5a als Bodenelement auf, welche eine Kombination aus einer lichtdurchlässigen und einer UV-absorbierenden Folie darstellt. Eine derartige Petrischale ist in der DE 100 39 979 A1 ausführlich beschrieben. Diese Petrischale 5 enthält beispielsweise auf der Doppelmembran 5a eine Zellkultur 7. Im aufgesetzten Zustand ist der Abstand der Aufnahme­fläche bzw. des Hydrogels 4 von der Membran 5a kleiner als 10 mm, bevorzugt im Bereich von 1 bis 3 mm. Das so geschlossene Gefäß wird dann als Träger 14 in die Vorrichtung von Fig. 3 eingesetzt. Mit einem Laserstrahl wird ein gewünschter Teil der Zellkultur 7 ausgeschnitten und mittels eines Laserpulses auf das Hydrogel 4 katapultiert. Das Aufnahmeelement 1 ersetzt dabei gleichzeitig eine in Fig. 3 dargestellte Auffangeinrichtung 19.

Zur weiteren Verarbeitung wird das Aufnahmeelement 1 dann beispielsweise auf ein Zellkulturgefäß oder auch auf eine weitere Petrischale 5 mit Membran 5a aufgesetzt. Die auf das Hydrogel 4 katapultierten Zellen können durch leichte Bewegungen oder durch



Erwärmung der Agaroseschicht 4 abgelöst werden. Dabei kann die weitere Petrischale 5 insbesondere mit einer Zellkulturflüssigkeit gefüllt sein, in welche das Hydrogel 4 eintaucht. Alternativ kann die Hydrogelschicht auch durch Zugabe von Agarase, einem Enzym, welches Agarose auflöst, vollständig aufgelöst werden. Danach kann das Aufnahmeelement 1 gegen  
5 einen herkömmlichen Deckel ausgetauscht werden und – gegebenenfalls nach einer Sterilisation – wiederverwendet werden. Werden die katapultierten Zellen so in eine weitere Petrischale 5 mit Membran 5a übertragen, kann nach Kultivierung in dieser Petrischale der Vorgang mit den dort entstandenen Zellkulturen wiederholt werden.

10 Die Verwendung des Hydrogels, in diesem Fall der Agaroseschicht 4, hat den Vorteil, dass beispielsweise durch die Lasereinstrahlung oder durch eine Berührung hervorgerufene elektrostatische Kräfte nicht dazu führen, dass die herauskatapultierten Zellen anstelle auf der Hydrogelschicht 4 an dem Deckel 2 hängen bleiben.

15 Ein Vorteil bei Verwendung einer derartigen Aufnahmeeinrichtung ist es auch, dass die Agaroseschicht 4 eine bessere Visualisierung der Zellkultur 7 sowie der herauskatapultierten Zellen mit einem Mikroskop ermöglicht, da der Kontrast verbessert wird.

In Fig. 2 ist ein zweites Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung gezeigt. Dabei  
20 handelt es sich um ein Aufnahmeelement 1 in Form von so genannten Mehrfachkulturschalen, das heißt, mehrere zusammenhängende schalenartige Vertiefungen 20. In dem dargestellten Beispiel sind drei derartige Schalen 20 dargestellt, welche mit Stegen 6 verbunden sind. Die Schalen können mit einem (nicht dargestellten) Deckel abgedeckt werden. Bei handelsüblichen Mehrfachkulturschalen bzw. Mehrfachkulturplatten  
25 sind üblicherweise wesentlich mehr dieser Schalen 20 vorhanden, beispielsweise vier Reihen mit je sechs derartigen Schalen 20. Die Schalen sind wiederum mit Agarose 4 oder einem anderen Hydrogel gefüllt. Bei einem Katapultvorgang wie oben beschrieben wird diese Anordnung entsprechend mit der Öffnung nach unten in die Aufnahmeeinrichtung 19 des in Fig. 3 dargestellten Mikroskop angebracht, und von einem Träger 14 werden die  
30 gewünschten Zellen auf die Agaroseschichten 4 katapultiert. Die Höhe der Befüllung mit Agarose wird dabei derart gewählt, dass ein für das Katapultieren günstiger Abstand zu dem Träger 14 vorliegt, bevorzugt zwischen 1 und 3 mm.

Nach dem Katapultieren kann die Agarose 4 wiederum durch Zugabe von Agarase  
35 verflüssigt werden, so dass eine unmittelbare Weiterverwendung vorgenommen werden kann. Des Weiteren können in den Agaroseschichten 4 verschiedene Zusätze wie z. B. Zellkulturmedien oder Pufferlösungen eingebracht sein. Für eine folgende Verarbeitung oder

Analyse der katapultierten Zellen ist daher ein zusätzliches Einbringen dieser Mittel nicht mehr erforderlich, da diese nach dem Auflösen bzw. Verflüssigen der Agarose freigesetzt werden. Auch Enzyme oder Enzym-Voransätze können hier als Zusätze dienen. Es wird daher ein Arbeitsschritt eingespart, auch die damit verbundene Kontaminierungsgefahr wird vermieden, da diese Zusätze nicht z.B. durch Pipettieren hinzugefügt werden müssen, die gewünschte Verarbeitung und/oder Analyse kann sofort gestartet werden. Ein bevorzugter Anwendungsbereich ist hier die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), wobei die Zusätze bevorzugt so gewählt werden können, dass bei einem Auflösen des Hydrogels durch Erwärmung gleichzeitig die Reaktion gestartet wird. Ein anderer Anwendungsbereich ist die Kultivierung der katapultierten Zellen.

Bei derartigen Anwendungen ist darauf zu achten, dass das aufgelöste Hydrogel die vorgesehene Verarbeitung oder Analyse nicht stört oder kontaminiert. Hochreine, bevorzugt sterilisierte Agarose ist hier wiederum ein Beispiel für ein geeignetes Hydrogel.

Anstelle der Mehrfachkulturschalen können auch so genannte Mikrotiterplatten bzw. 96-well-Mikrotiterplatten ähnlich wie in Fig. 2 mit feinporiger, feingeliegender Agarose befüllt werden, so das wiederum ein optimaler Abstand für einen Katapultierprozess vorliegt. Auch hier können wieder für die Weiterverarbeitung der katapultierten Zellen gewünschte Gemische der Agarose beigemischt werden, beispielsweise Reaktionsgemische wie denaturierende Pufferlösungen oder enzymhaltige Voransätze. Damit kann für alle geernteten Zellen eine gewünschte Reaktion zum gleichen Zeitpunkt gestartet werden. Da die Agarose durch das Agaraseenzym aufgelöst werden kann, steht für folgende Anwendungen wie PCR bzw. MALDI (Polymerasekettenreaktion, Polymerase Chain Reaction bzw. matrixassistierte Laserdesorption/Ionisation) das volle Volumen der jeweiligen Vertiefungen zur Verfügung. Bei derartigen Anwendungen kann anstelle der Auflösung der Agarose mittels Agarase die Agarase auch durch zyklisches Erhitzen der Probe beispielsweise während des PCR-Vorgangs verflüssigt werden.

Selbstverständlich sind die hier dargestellten Ausführungsbeispiele nicht auf Agarose als Hydrogel beschränkt, es könne auch andere Hydrogele mit den gewünschten Eigenschaften verwendet werden. Möglich wäre hier beispielsweise ein Hydrogel auf Basis von Collagen, Polyacrylamid oder ähnlichen Substanzen. Auch andere Formen der Aufnahmeeinheiten sind je nach gewünschter Anwendung möglich.

## PATENTANSPRÜCHE

- 5 1. Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,  
wobei das Aufnahmeelement (1) eine Aufnahme­fläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,  
wobei die Aufnahme­fläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des  
10 jeweiligen Objekts an der Aufnahme­fläche aufweist,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Haftmittel (4) auflösbar ist, ohne eine Eignung des Objekts für eine vorgegebene Verarbeitung und/oder Analyse zu beeinträchtigen.
- 15 2. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 1,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Haftmittel (4) zum Auflösen durch Zufuhr von Wärme verflüssigbar ist.
- 20 3. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 1 oder 2,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Haftmittel (4) ohne Beschädigung des Objekts auflösbar ist.
- 25 4. Aufnahmeelement (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Haftmittel (4) Mittel für die vorgegebene Verarbeitung und/oder Analyse umfasst.
- 30 5. Aufnahmeelement (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Haftmittel (4) derart ausgestaltet ist, dass es nach dem Auflösen die vorgegebene Verarbeitung und/oder Analyse nicht beeinflusst.
- 35 6. Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,  
wobei das Aufnahmeelement (1) eine Aufnahme­fläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,

wobei die Aufnahme­fläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an der Aufnahme­fläche aufweist,

**dadurch gekennzeichnet,**

dass das Haftmittel (4) derart ausgestaltet ist, dass es das Auftreten von auf das Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften in dem Aufnahme­element (1) unterdrückt.

7. Aufnahme­element (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,

wobei das Aufnahme­element (1) eine Aufnahme­fläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,

wobei die Aufnahme­fläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an der Aufnahme­fläche aufweist,

**dadurch gekennzeichnet,**

dass das Haftmittel (4) derart ausgestaltet ist, dass es Mittel zur weiteren Verarbeitung und/oder Analyse des Objekts aufnehmen kann.

8. Aufnahme­element (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,

wobei das Aufnahme­element (1) eine Aufnahme­fläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,

wobei die Aufnahme­fläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an der Aufnahme­fläche aufweist,

**dadurch gekennzeichnet,**

dass das Haftmittel ein Hydrogel (4) ist.

9. Aufnahme­element (1) nach Anspruch 7,

**dadurch gekennzeichnet,**

dass das Hydrogel (4) derart ausgestaltet ist, dass es das Auftreten von auf das Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften in dem Aufnahme­element (1) unterdrückt.

10. Aufnahme­element (1) nach Anspruch 8 oder 9,

**dadurch gekennzeichnet,**

dass das Hydrogel (4) ohne Beschädigung des Objekts auflösbar ist.

11. Aufnahme­element (1) nach Anspruch 10,

**dadurch gekennzeichnet,**

dass das Hydrogel (4) durch Zugabe eines Enzyms auflösbar ist.

12. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 10 oder 11,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Hydrogel (4) durch Zufuhr von Wärme zum Auflösen verflüssigbar ist.
- 5
13. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 8 bis 12,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Hydrogel (4) derart ausgestaltet ist,  
dass es Mittel zur weiteren Verarbeitung des Objekts aufnehmen kann.
- 10
14. Aufnahmeelement nach Anspruch 13,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass die Mittel zur weiteren Verarbeitung und/oder Analyse des Objekts in dem  
Hydrogel (4) eingelagert sind..
- 15
15. Aufnahmeelement nach Anspruch 14,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass die Mittel zur weiteren Verarbeitung des Objekts Puffermittel, ein Zellkulturmedium  
und/oder einen Enzym-Voransatz umfassen.
- 20
16. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 8 bis 15,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Hydrogel (4) Agarose umfasst.
- 25
17. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 16,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Hydrogel aus reiner Agarose besteht.
- 30
18. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 8 bis 15,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Hydrogel (4) ein Hydrogel auf Basis von proteinogenen Substanzen, Collagen,  
einem Netzwerk-Bildner auf Zuckerbasis und/oder Polyacrylamid umfasst.
- 35
19. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 18,  
**dadurch gekennzeichnet,**

dass das Aufnahmeelement (1) einen Deckelabschnitt (2) zum Abdecken eines Behälters (5) und ein in dem Deckelabschnitt (2) angebrachtes Stützelement (3) mit der Aufnahme­fläche auf einer dem Deckelabschnitt (2) abgewandten Seite aufweist.

- 5     20. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 19,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass das Stützelement (3) aus Silikon oder Acrylglas gefertigt ist.
- 10     21. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 19 oder 20,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass das Stützelement (3) eine Höhe aufweist, welche so gewählt ist, dass der Abstand des Hydrogels (4) zu einem Boden (5a) des Behälters (5) in einem Zustand, in dem der Deckelabschnitt (2) den Behälter (5) abdeckt, kleiner als 10 mm ist.
- 15     22. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 19 bis 21,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass das Stützelement (3) abnehmbar an dem Deckelabschnitt (2) angebracht ist.
- 20     23. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 18,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass das Aufnahmeelement in Form einer Mehrfachkulturschale (1) ausgestaltet ist.
- 25     24. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 18,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass das Aufnahmeelement in Form einer Mikrotiterplatte ausgestaltet ist.
- 30     25. Aufnahmeelement (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass Aufnahmevertiefungen (20) des Aufnahmeelements (1) bis zu einer vorgegebenen Höhe mit dem Haftmittel (4) gefüllt sind.
- 35     26. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 7 bis 25,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass das Aufnahmeelement nach einem der Ansprüche 1 bis 6 ausgestaltet ist.

27. Verwendung eines Aufnahmeelementes (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 26 zum Auffangen eines biologischen Objekts, welches mit Hilfe eines Laserstrahls aus einer biologischen Masse herausgelöst wurde.
- 5 28. Verwendung nach Anspruch 27,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Herauslösen des Objekts aus der biologischen Masse (7) durch einen von einem Laser ausgelösten Transportvorgang vorgenommen wird.
- 10 29. Verfahren zur Gewinnung eines biologischen Objekts,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
dass das Objekt mit einem Laser aus einer biologischen Masse (7) herausgelöst und zu einem Aufnahmeelement (1) transportiert wird,  
dass das Objekt auf einer Aufnahmefläche des Aufnahmeelements (1) nach einem der  
15 Ansprüche 1 bis 25 aufgenommen wird, und  
dass das Haftmittel (4) des Aufnahmeelements (1) aufgelöst wird.
30. Verfahren nach Anspruch 29,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
20 dass bei dem Auflösen des Haftmittels (4) in dem Haftmittel eingelagerte Mittel zur weiteren Verarbeitung und/oder Analyse des biologischen Objekts freigesetzt werden.

1/2

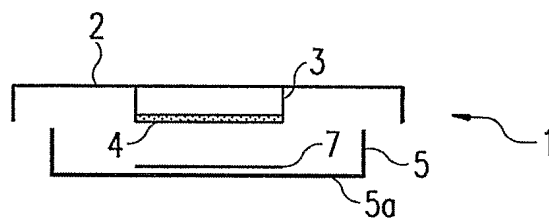


Fig. 1

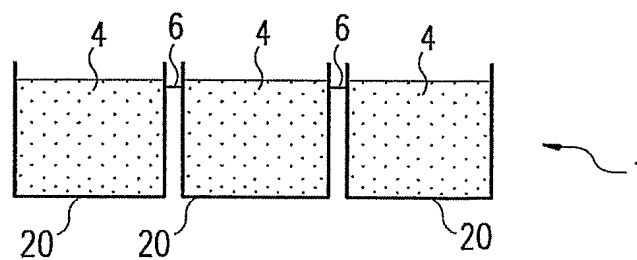


Fig. 2



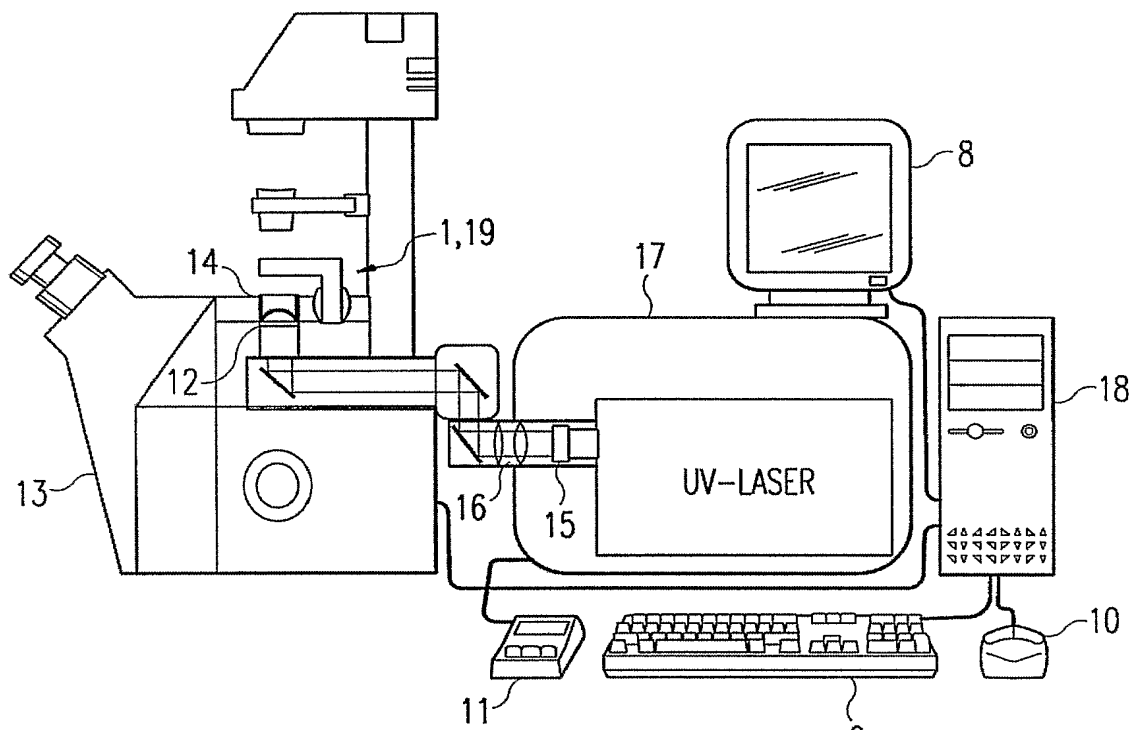


Fig. 3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/014311

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 G01N1/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, INSPEC

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X          | WO 97/29355 A (P.A.L.M. GMBH; SCHUETZE, KARIN; SCHUETZE, RAIMUND)<br>14 August 1997 (1997-08-14)   | 1-5, 7, 8,<br>10-28   |
| Y          | -----  | 29, 30                |
| Y          | WO 02/10751 A (THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE) 7 February 2002 (2002-02-07)<br>page 31, line 1 - line 11<br>-----                                 | 29, 30                |
| A          | AKIYOSHI: "a simplified method ..."<br>JAPANESE JOURNAL OF SUGERY,<br>vol. 16, no. 3, 1986, pages 235-238,<br>XP008045275<br>JP<br>page 236, column 2, line 2 - line 10<br>-----<br>-/-- | 2, 3, 29              |



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 April 2005

Date of mailing of the international search report

15/04/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hocquet, A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/014311

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| A          | EP 0 743 363 A (KABUSHIKI KAISHA YAKULT HONSHA) 20 November 1996 (1996-11-20)<br>page 4, line 51 - line 55<br>-----  | 11                    |
| A          | US 2003/104347 A1 (MORI YUICHI ET AL)<br>5 June 2003 (2003-06-05)<br>paragraphs '0030! - '0032!<br>-----   | 3,11                  |
| A          | GB 1 295 337 A (UNION CARBIDE)<br>8 November 1972 (1972-11-08)<br>page 1, line 50 - line 63<br>-----   | 13-15                 |
| A          | US 6 251 516 B1 (BONNER ROBERT F ET AL)<br>26 June 2001 (2001-06-26)<br>column 9, line 31 - line 34  | 6,9                   |
| A          | column 17, line 34 - line 37<br>-----  | 1,2                   |
| A          | WO 01/61311 A (ARCTURUS ENGINEERING, INC;<br>BAER, THOMAS, M; REAMEY, ROBERT, H; HEAD,<br>D) 23 August 2001 (2001-08-23)<br>page 12, line 1 - line 2<br>page 13, line 8 - line 12<br>figure 1<br>----- | 1                     |
| A          | US 4 144 760 A (SCHLUETER ET AL)<br>20 March 1979 (1979-03-20)<br>column 1, line 22 - line 31<br>column 1, line 61 - column 2, line 6<br>column 3, line 58 - line 64<br>-----                          | 19-22                 |
| A          |  | 1,29                  |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/014311

| Patent document<br>cited in search report |    | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|----|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9729355                                | A  | 14-08-1997          | DE 19603996 A1             | 14-08-1997          |
|   |    |                     | DE 19616216 A1             | 30-10-1997          |
|   |    |                     | AT 196360 T                | 15-09-2000          |
|   |    |                     | CA 2245553 A1              | 14-08-1997          |
|   |    |                     | DE 29723120 U1             | 14-05-1998          |
|   |    |                     | DE 59702347 D1             | 19-10-2000          |
|   |    |                     | WO 9729354 A1              | 14-08-1997          |
|   |    |                     | WO 9729355 A1              | 14-08-1997          |
|   |    |                     | EP 0879408 A1              | 25-11-1998          |
|   |    |                     | ES 2150754 T3              | 01-12-2000          |
|   |    |                     | JP 3311757 B2              | 05-08-2002          |
|   |    |                     | JP 2000504824 T            | 18-04-2000          |
|   |    |                     | US 5998129 A               | 07-12-1999          |
| WO 0210751                                | A  | 07-02-2002          | AU 4570001 A               | 13-02-2002          |
|   |    |                     | CA 2415864 A1              | 07-02-2002          |
|   |    |                     | EP 1305622 A2              | 02-05-2003          |
|   |    |                     | WO 0210751 A2              | 07-02-2002          |
| EP 0743363                                | A  | 20-11-1996          | JP 8294389 A               | 12-11-1996          |
|   |    |                     | AU 5087596 A               | 07-11-1996          |
|   |    |                     | CA 2174906 A1              | 28-10-1996          |
|   |    |                     | EP 0743363 A2              | 20-11-1996          |
| US 2003104347                             | A1 | 05-06-2003          | AU 4455301 A               | 03-10-2001          |
|   |    |                     | EP 1266570 A1              | 18-12-2002          |
|   |    |                     | WO 0170022 A1              | 27-09-2001          |
| GB 1295337                                | A  | 08-11-1972          | BE 747154 A1               | 10-09-1970          |
|   |    |                     | CA 924224 A1               | 10-04-1973          |
|   |    |                     | CH 525958 A                | 31-07-1972          |
|   |    |                     | DE 2011366 A1              | 12-11-1970          |
|   |    |                     | FR 2037915 A5              | 31-12-1970          |
|   |    |                     | NL 7003392 A               | 14-09-1970          |
| US 6251516                                | B1 | 26-06-2001          | US 5843657 A               | 01-12-1998          |
|   |    |                     | US 5843644 A               | 01-12-1998          |
|   |    |                     | US 2002037269 A1           | 28-03-2002          |
|   |    |                     | AT 274572 T                | 15-09-2004          |
|   |    |                     | AU 716979 B2               | 16-03-2000          |
|   |    |                     | AU 7663396 A               | 30-04-1997          |
|   |    |                     | CA 2233614 A1              | 17-04-1997          |
|   |    |                     | DE 69633248 D1             | 30-09-2004          |
|   |    |                     | EP 0862612 A1              | 09-09-1998          |
|   |    |                     | JP 2000500325 T            | 18-01-2000          |
|   |    |                     | WO 9713838 A1              | 17-04-1997          |
|   |    |                     | US 6251467 B1              | 26-06-2001          |
|   |    |                     | US 6204030 B1              | 20-03-2001          |
|   |    |                     | US 2001031481 A1           | 18-10-2001          |
|   |    |                     | US 6010888 A               | 04-01-2000          |
|   |    |                     | AU 691263 B2               | 14-05-1998          |
|   |    |                     | AU 1933795 A               | 18-09-1995          |
|   |    |                     | DE 69510925 D1             | 26-08-1999          |
|   |    |                     | DE 69510925 T2             | 17-02-2000          |
|   |    |                     | EP 0748439 A1              | 18-12-1996          |
|   |    |                     | JP 10500205 T              | 06-01-1998          |
|   |    |                     | AT 182405 T                | 15-08-1999          |
|   |    |                     | CA 2184245 A1              | 08-09-1995          |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/014311

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US 6251516                                | B1                  | CN 1143413 A               | 19-02-1997          |
|   |                     | ES 2138727 T3              | 16-01-2000          |
|   |                     | WO 9523960 A1              | 08-09-1995          |
| WO 0161311                                | A                   | 23-08-2001                 | AU 3846201 A        |
|   |                     |                            | EP 1269144 A1       |
|   |                     |                            | WO 0161311 A1       |
|   |                     |                            | US 2001028934 A1    |
|   |                     |                            | US 2004197850 A1    |
| US 4144760                                | A                   | 20-03-1979                 | DE 2644281 B1       |
|   |                     |                            | AT 376799 B         |
|   |                     |                            | AT 635177 A         |
|   |                     |                            | BE 858934 A1        |
|   |                     |                            | CA 1100782 A1       |
|   |                     |                            | CH 625048 A5        |
|   |                     |                            | DK 425977 A ,B,     |
|   |                     |                            | FR 2366554 A1       |
|   |                     |                            | GB 1550076 A        |
|   |                     |                            | IT 1087619 B        |
|   |                     |                            | JP 1299264 C        |
|   |                     |                            | JP 53043590 A       |
|   |                     |                            | JP 60024417 B       |
|   |                     |                            | LU 78194 A1         |
|   |                     |                            | NL 7710565 A        |
|   |                     |                            | SE 434998 B         |
|   |                     |                            | SE 7710068 A        |

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 G01N1/28

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, INSPEC

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr.  |
|------------|--|---------------------|
| X          | WO 97/29355 A (P.A.L.M. GMBH; SCHUETZE, KARIN; SCHUETZE, RAIMUND)<br>14. August 1997 (1997-08-14)  | 1-5, 7, 8,<br>10-28 |
| Y          | -----  | 29, 30              |
| Y          | WO 02/10751 A (THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE) 7. Februar 2002 (2002-02-07)<br>Seite 31, Zeile 1 - Zeile 11   | 29, 30              |
| A          | AKIYOSHI: "a simplified method ..."<br>JAPANESE JOURNAL OF SUGERY,<br>Bd. 16, Nr. 3, 1986, Seiten 235-238,<br>XP008045275<br>JP<br>Seite 236, Spalte 2, Zeile 2 - Zeile 10<br>-----<br>-/- | 2, 3, 29            |



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

6. April 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

15/04/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hocquet, A

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| A          | EP 0 743 363 A (KABUSHIKI KAISHA YAKULT HONSHA) 20. November 1996 (1996-11-20)<br>Seite 4, Zeile 51 - Zeile 55<br>-----  | 11                 |
| A          | US 2003/104347 A1 (MORI YUICHI ET AL)<br>5. Juni 2003 (2003-06-05)<br>Absätze '0030! - '0032!<br>-----   | 3,11               |
| A          | GB 1 295 337 A (UNION CARBIDE)<br>8. November 1972 (1972-11-08)<br>Seite 1, Zeile 50 - Zeile 63<br>-----   | 13-15              |
| A          | US 6 251 516 B1 (BONNER ROBERT F ET AL)<br>26. Juni 2001 (2001-06-26)<br>Spalte 9, Zeile 31 - Zeile 34   | 6,9                |
| A          | Spalte 17, Zeile 34 - Zeile 37<br>-----  | 1,2                |
| A          | WO 01/61311 A (ARCTURUS ENGINEERING, INC;<br>BAER, THOMAS, M; REAMEY, ROBERT, H; HEAD,<br>D) 23. August 2001 (2001-08-23)<br>Seite 12, Zeile 1 - Zeile 2<br>Seite 13, Zeile 8 - Zeile 12 | 1                  |
| A          | Abbildung 1<br>-----   | 19-22              |
| A          | US 4 144 760 A (SCHLUETER ET AL)<br>20. März 1979 (1979-03-20)<br>Spalte 1, Zeile 22 - Zeile 31<br>Spalte 1, Zeile 61 - Spalte 2, Zeile 6<br>Spalte 3, Zeile 58 - Zeile 64<br>-----      | 1,29               |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/014311

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 9729355 A                                       | 14-08-1997                    | DE 19603996 A1                    | 14-08-1997                    |
|  |                               | DE 19616216 A1                    | 30-10-1997                    |
|  |                               | AT 196360 T                       | 15-09-2000                    |
|  |                               | CA 2245553 A1                     | 14-08-1997                    |
|  |                               | DE 29723120 U1                    | 14-05-1998                    |
|  |                               | DE 59702347 D1                    | 19-10-2000                    |
|  |                               | WO 9729354 A1                     | 14-08-1997                    |
|  |                               | WO 9729355 A1                     | 14-08-1997                    |
|  |                               | EP 0879408 A1                     | 25-11-1998                    |
|  |                               | ES 2150754 T3                     | 01-12-2000                    |
|  |                               | JP 3311757 B2                     | 05-08-2002                    |
|  |                               | JP 2000504824 T                   | 18-04-2000                    |
|  |                               | US 5998129 A                      | 07-12-1999                    |
|  |                               |                                   |                               |
| WO 0210751 A                                       | 07-02-2002                    | AU 4570001 A                      | 13-02-2002                    |
|  |                               | CA 2415864 A1                     | 07-02-2002                    |
|  |                               | EP 1305622 A2                     | 02-05-2003                    |
|  |                               | WO 0210751 A2                     | 07-02-2002                    |
| EP 0743363 A                                       | 20-11-1996                    | JP 8294389 A                      | 12-11-1996                    |
|  |                               | AU 5087596 A                      | 07-11-1996                    |
|  |                               | CA 2174906 A1                     | 28-10-1996                    |
|  |                               | EP 0743363 A2                     | 20-11-1996                    |
| US 2003104347 A1                                   | 05-06-2003                    | AU 4455301 A                      | 03-10-2001                    |
|  |                               | EP 1266570 A1                     | 18-12-2002                    |
|  |                               | WO 0170022 A1                     | 27-09-2001                    |
| GB 1295337 A                                       | 08-11-1972                    | BE 747154 A1                      | 10-09-1970                    |
|  |                               | CA 924224 A1                      | 10-04-1973                    |
|  |                               | CH 525958 A                       | 31-07-1972                    |
|  |                               | DE 2011366 A1                     | 12-11-1970                    |
|  |                               | FR 2037915 A5                     | 31-12-1970                    |
|  |                               | NL 7003392 A                      | 14-09-1970                    |
| US 6251516 B1                                      | 26-06-2001                    | US 5843657 A                      | 01-12-1998                    |
|  |                               | US 5843644 A                      | 01-12-1998                    |
|  |                               | US 2002037269 A1                  | 28-03-2002                    |
|  |                               | AT 274572 T                       | 15-09-2004                    |
|  |                               | AU 716979 B2                      | 16-03-2000                    |
|  |                               | AU 7663396 A                      | 30-04-1997                    |
|  |                               | CA 2233614 A1                     | 17-04-1997                    |
|  |                               | DE 69633248 D1                    | 30-09-2004                    |
|  |                               | EP 0862612 A1                     | 09-09-1998                    |
|  |                               | JP 2000500325 T                   | 18-01-2000                    |
|  |                               | WO 9713838 A1                     | 17-04-1997                    |
|  |                               | US 6251467 B1                     | 26-06-2001                    |
|  |                               | US 6204030 B1                     | 20-03-2001                    |
|  |                               | US 2001031481 A1                  | 18-10-2001                    |
|  |                               | US 6010888 A                      | 04-01-2000                    |
|  |                               | AU 691263 B2                      | 14-05-1998                    |
|  |                               | AU 1933795 A                      | 18-09-1995                    |
|  |                               | DE 69510925 D1                    | 26-08-1999                    |
|  |                               | DE 69510925 T2                    | 17-02-2000                    |
|  |                               | EP 0748439 A1                     | 18-12-1996                    |
|  |                               | JP 10500205 T                     | 06-01-1998                    |
|  |                               | AT 182405 T                       | 15-08-1999                    |
|  |                               | CA 2184245 A1                     | 08-09-1995                    |



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/014311

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| US 6251516   | B1                            | CN 1143413 A                      | 19-02-1997                    |
|  |                               | ES 2138727 T3                     | 16-01-2000                    |
|  |                               | WO 9523960 A1                     | 08-09-1995                    |
| WO 0161311   | A                             | 23-08-2001                        | AU 3846201 A                  |
|  |                               |                                   | EP 1269144 A1                 |
|  |                               |                                   | WO 0161311 A1                 |
|  |                               |                                   | US 2001028934 A1              |
|  |                               |                                   | US 2004197850 A1              |
| US 4144760   | A                             | 20-03-1979                        | DE 2644281 B1                 |
|  |                               |                                   | AT 376799 B                   |
|  |                               |                                   | AT 635177 A                   |
|  |                               |                                   | BE 858934 A1                  |
|  |                               |                                   | CA 1100782 A1                 |
|  |                               |                                   | CH 625048 A5                  |
|  |                               |                                   | DK 425977 A ,B,               |
|  |                               |                                   | FR 2366554 A1                 |
|  |                               |                                   | GB 1550076 A                  |
|  |                               |                                   | IT 1087619 B                  |
|  |                               |                                   | JP 1299264 C                  |
|  |                               |                                   | JP 53043590 A                 |
|  |                               |                                   | JP 60024417 B                 |
|  |                               |                                   | LU 78194 A1                   |
|  |                               |                                   | NL 7710565 A                  |
|  |                               |                                   | SE 434998 B                   |
|  |                               |                                   | SE 7710068 A                  |